

## 채소연부병균 *Erwinia rhapontici*에 대한 *Pseudomonas* sp.의 생물학적 억제

김교창 · 김도영\* · 도대홍\*\*†

충북대학교 식품공학과

\*충청전문대학 식품영양과

\*\*충청전문대학 식품가공과

### Biological Control of *Pseudomonas* sp. for *Erwinia rhapontici* Causing Vegetables Root Rot

Kyo-Chang Kim, Do-Young Kim\* and Dea-Hong Do\*\*†

Dept. of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Cheongju 360-763, Korea

\*Dept. of Food and Nutrition, Chungcheong College, Cheongweon 363-890, Korea

\*\*Dept. of Food Science and Technology, Chungcheong College, Cheongweon 363-890, Korea

#### Abstract

For selection of powerful antagonistic bacteria for biological control of soil borne *Erwinia rhapontici* causing rot of the vegetable and fruit, excellent strains (S43, S62) were selected from rhizosphere in vegetable root rot suppressive soil. Selected strains were identified to be *Pseudomonas* sp. with Apl 20NE kit tests. Optimum culture condition for the maximum production of antagonistic substance was determined, when isolate was cultured in 523 synthetic broth media at pH 7.0 and 30 during 3 days. Antagonistic substance productivity of isolated *Pseudomonas* sp. (S43, S62) in the fertilizer soil were increased to about 40~50% compared to that in the non fertilizer soil.

**Key words** : biological control, *Erwinia rhapontici*, plant pathogen, antagonistic *Pseudomonas* sp.

#### 서 론

일반적으로 식물병을 방제하기 위하여 사용되는 화학농약은 여러가지 병원균들에 대한 작용범위가 넓지만 구분별한 살포는 식물병원균의 내성을 증가시키고, 이로 인한 새로운 물질의 농약개발이 요구되는 악순환이 반복되어 화학농약의 농작물 잔류 및 생태계변화 등 심각한 환경위해 요인이 되고 있다<sup>1,2)</sup>. 이와같은 문제점의 해결을 위한 방법의 하나로 식물병원균에 대해 길항력을 갖는 미생물을 이용하는 생물학적 방제가 있다. 미생물을 이용한 생물학적 방제는 식물병원균에 대하여 길항력을 갖는 미생물이 독성물질을 분비하여 병원균을 분해하는 용균작용과 병원균을 영양원으로 이용하여 분해시키는 기생과 포식 등, 미생물상호간의 영

향에 의한 생물학적 생육억제로서<sup>3-8)</sup> 오래전 부터 알려져 왔으며 억제물질은 항생물질과 bacteriocin으로 대별된다. 유용한 길항미생물은 경작지토양에 산포시 농약의 피해를 배제할 수 있을 뿐만아니라 토양에 존재하는 유용한 천적동물을 보호하며<sup>9)</sup>, 토양의 유해물질을 분해하여 토양을 안정화하여 미생물 생태계의 균형을 유지함으로써 토양의 이화학적 성질 개선에도 기여하게 된다<sup>10,11)</sup>.

선진국들은 이러한 미생물 농약을 개발하여 시판하고 있으며 새로운 제품 개발에 심혈을 기울이고 있는 실정이다. 최근에는 유전공학적인 기법을 이용하여 억제물질 생산유전자의 소재확인 및 cloning 등 다양한 연구가 진행되고 있다<sup>4,5,11)</sup>. 본 실험에서는 생물학적 방제의 일환으로 경작지의 과채류는 물론 유통과정에서 연부 및 무름병을 유발하는 원인균의 하나인 *Erwinia rhapontici*의 생육을 억제하는 *Pseudomonas* sp.를 토양으로

†To whom all correspondence should be addressed

부터 분리하여 배양특성 및 토양정착과 어린 배추잎을 이용하여 생물학적 방제효과를 확인하고, 이러한 몇가지 결과를 토대로 하여 미생물 농약으로서 이용 가능성을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 사용균주 및 배지

병원균은 농촌진흥청 농업기술연구소 식물병리과에서 분양받아 사용하였고, 길항균은 토양으로부터 분리하여 사용하였다. 식물병원균 및 분리 길항균의 배양은 523증식 배지<sup>12)</sup>(8g casein hydrolysate, 10g sucrose, 4g yeast extract, 2g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.3g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 15g agar/distilled water 1 liter, pH 7.0)를 사용하였고, 길항균 분리배지로는 D4 선택배지<sup>12)</sup>(10g glycerol, 5g NH<sub>4</sub>Cl, 10g sucrose, 1g casein hydrolysate, 2.3g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.6g SDS, 15g agar/distilled water 1 liter, pH 6.8)를 사용하였다.

### 길항력 검정

Kavanagh<sup>13)</sup>의 paper disc법을 참고하여 길항균 배양액을 12,000rpm으로 원심분리하여 균체를 제거하고, 상층액만 분리하여 chloroform 2~3방울을 적하하여 밀폐상태로 약 10분간 방치하여 살균한 후 길항력 검정 시료액으로 사용하였다. 식물병원균에 대한 길항력 검정은 식물병원균을 10<sup>6</sup>cell/ml이 되도록 전 배양한 액을 살균된 523 증식용 액체배지로 2배 희석하여 523 증식용 한천배지에 0.5ml씩 도말하고 건조시킨 petri dish에 검정 시료액 0.65ml씩 흡착시킨 직경 8mm paper disc를 부착시켜 30°C에서 3일간 배양하고 생성되는 생육 저지환의 직경을 측정하여 길항력을 비교하였다.

### 길항균의 분리 및 선발

채소 수확 직후의 경작지 표토로부터 5cm이내의 토양을 채집하여 30°C항온기에서 3일간 활성화시킨 토양 시료 10g을 생리식염수 100ml에 진탕하여 약 30분 방치한 상등액 0.5ml를 D4 선택용 한천배지에 도말하고 30°C의 항온기에 배양하면서 Kado와 Heskett<sup>12)</sup>의 방법에 따라 자외선 조사시 형광성을 나타내는 균 집락을 *Pseudomonas* sp.으로 분리하였다. 형광성 균 집락은 523 증식용 한천배지상에 이식하여 4°C냉장고에 보관하여 두고 길항균 선발에 사용하였다. 길항균 선발은 *Erwinia rhapontici* 병원균을 배양하여 도말·건조한

523 증식용 한천배지에 Gratia<sup>14)</sup>의 agar spot test로 길항균을 1차 선발하였다. 1차 선발균주를 paper disc법으로 가장 우수한 균주를 최종 선발하고 API 20NE kit로 *Pseudomonas* sp.임을 재확인하였다(결과 생략).

### 생물학적 방제

길항균의 생물학적 억제효과는 10<sup>6</sup>cell/ml로 배양한 식물병원균과 길항균액을 멸균 petri dish상에서 1:1의 액량으로 혼합하고 약 15cm 가량의 어린 배추잎을 침지하여 25°C에서 48시간 보관하면서 발병 및 발병 억제효과를 관찰하였다.

### 배양조건에 따른 길항력 조사

길항균의 배양조건을 조절한 523 증식용 배지를 사용하여 병원균에 대한 생육 억제력을 관찰하기 위하여 30°C에서 16시간 전 배양한 길항균액(10<sup>6</sup>cell/ml) 1ml를 30ml의 증식용 배지에 이식하여 3일간 배양하고, 길항력 검정 시료액 조제와 동일한 방법으로 준비한 시료액을 paper disc법으로 생육 억제력을 관찰했다. 분리한 길항균의 배양조건중 배양시간에 따른 *Erwinia rhapontici* 병원균에 대한 생육 억제력 변화는 배양시작 1일부터 5일까지 조사하였고, pH에 대한 영향은 배양초기 pH를 2에서 12까지 조정하여 3일간 배양하여 관찰하였다. 배양온도에 따른 영향은 5°C에서 40°C까지 5°C의 간격을 두고 3일간 배양하였다.

### 시비토양중 활성 조사

발토양 40g에 소정량의 화학비료를 첨가하고 수분함량을 40%로 조정한 후 test tube에 분주하고 살균하여 전배양액(10<sup>6</sup>cell/ml) 1ml씩 이식하고 30°C에서 15일간 배양하였다. 100ml의 살균증류수로 10분간 진탕 추출한 상층액에 chloroform 2~3방울을 첨가하여 살균하고 paper disc법에 따라 생육 억제력을 비교하였다. 화학비료 첨가는 황산암모늄 1.0%, 중과인산석회 0.4%, 염화카리 0.4%씩 첨가하였다.

## 결과 및 고찰

### 길항균의 분리 및 선발

채소 경작지 표층토로부터 채집한 시료 230점으로 Kato와 Heskett<sup>12)</sup>의 분리법에 따라 자외선 조사시 형광성을 나타내는 균집락을 대상으로 분리했다. 분리된 형광성 집락은 agar spot test를 통하여 병원균인 *Erwinia rhapontici*에서 길항력이 확인된 57균주를 선발하고,

paper disc법으로 2차 선발 과정을 통하여 억제력이 우수한 5균주를 선발하였다. Kato와 Heskett<sup>12)</sup>에 의하면 523중식용 배지에서는 *Erwinia* sp., *Pseudomonas* sp., *Xanthomonas* sp. 및 *Agrobacterium* sp. 모두 잘 자랄 수 있지만 D4 선택배지는 *Pseudomonas* sp.와 *Erwinia* sp. 일부 종류만 자랄 수 있으며 *Pseudomonas* sp.는 *Erwinia* sp.에 비하여 증식속도가 빠르고 자외선 조사시 형광성을 나타낸다고 하였다. 따라서 본 실험에서도 D4 선택배지에서 형광성을 갖는 비교적 크기가 큰 집락을 대상으로 1차 검정을 실시하였다. 형광성을 나타내는 균 집락중 시설원에 지역에서 보다 많이 분리할 수 있었고, 같은 시설원에 지역에서도 발토양에서 더 많이 분리 되었다. 형광성 균 집락들은 *Erwinia rhapontici*에 대하여 agar spot test에서 생육 억제력이 우수한 5 균주를 선발하였고 (Fig. 1), 이들을 대상으로 pap-

er disc법으로 2차 선발을 실시한 결과 Fig. 2와 같이 S43과 S62 균주가 가장 우수하였다. 2차 선발 토양시료는 모두 시설원예지 발토양에서 분리되었고 특히 S43과 S4는 연부병이 발생된 채소의 뿌리 부근 토양시료에서 분리되었다. 2차 선발 균주중에서도 S43과 S62 균주가 병원균에 대한 억제력이 가장 우수하였다. 이들 균주들이 또 다른 종류의 병원균 생육에도 영향을 미칠 것으로 생각되어 Table 1과 같이 몇가지 다른 식물 병원균에 대해서도 조사를 실시하였다. S43과 S62 균주는 본 실험의 병원균인 *Erwinia rhapontici* 이외에도 과채류를 부패시키는 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 및 연부와 무름병의 원인균의 하나인 *Erwinia herbicola*에 대해서도 우수한 생육 억제력이 있었다. 천연적으로 발생하는 연부 및 부패는 한 종류의 병원균에 의해서 진행되는 것 보다 몇가지 병원균이 복합적으로 작용할 것이다. 이러한 면에서 본 실험에서 분리한 길항균은 과채류 등에 유용한 발병 억제균으로 작용할 수 있을 것이다. 이들 과채류의 부패 및 연부에 관여하는 병원균 상호간 및 길항균과의 상호 억제관계를 보다 면밀히 검토할 필요가 있을 것이다. 그러나 본 실험에서는 *Erwinia rhapontici* 병원균의 생육 억제에 한정하여 조사 검토하였다.

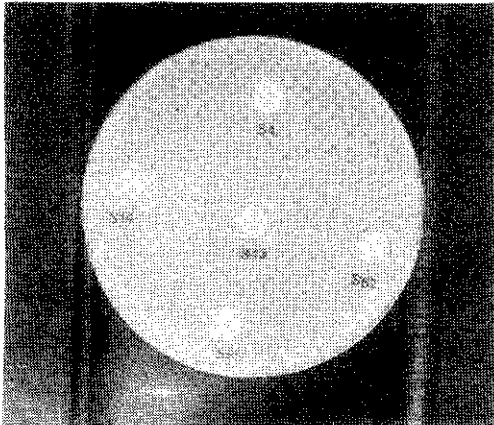


Fig. 1. Inhibition zones by antagonistic 5 strains of *Pseudomonas* sp. against pathogenic *Erwinia rhapontici* causing rot of plants with the 8mm paper disc method.

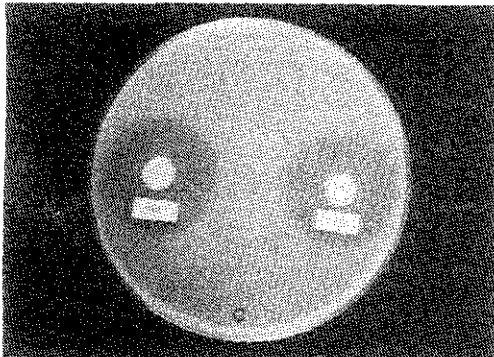


Fig. 2. Inhibition zones by antagonistic *Pseudomonas* sp. S43 and S62 against pathogenic *Erwinia rhapontici* causing rot of plants with the 8mm paper disc method.

분리길항균의 발병 억제효과

분리 선발한 *Pseudomonas* sp. S43과 S62 길항균이 *Erwinia rhapontici* 병원균에 대한 식물체 조직내에서 발병 억제효과를 알아보기 위하여 15cm 정도의 어린 배추잎을 길항균과 병원균액을 동량씩 혼합한 혼합액 (각 10<sup>6</sup>cell/ml)에 침지하고, 25°C에서 48시간동안 발병 진행과정을 관찰한 결과 Fig. 3과 같이 병원균액에

Table 1. Inhibition zones of the culture broth from isolates *Pseudomonas* sp. S43 and S62 against pathogenic bacteria with the agar spot test on 523media<sup>a</sup>

| Pathogenic bacteria   | Inhibition zones (mm) |      |
|---|-----------------------|------|
|   | S43                   | S62  |
| <i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>            | 15.6                  | 12.3 |
| <i>Erwinia herbicola</i>                                      | 15.7                  | 18.4 |
| <i>Pseudomonas syringae</i>                                   | 3.2                   | 5.0  |
| <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>oryzae</i> isolate No.15 | 7.2                   | 9.0  |
| <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>prvni</i>                | 3.0                   | 2.9  |
| <i>Erwinia rhapontici</i>                                     | 14.4                  | 16.2 |

523media<sup>a</sup> ; 8g casein hydrolysate, 10g sucrose, 4g yeast extract, 2g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.3g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 15g agar per distilled water 1 liter, pH 7.0

침지시킨 대조구에 비하여 *Pseudomonas* sp. S43과 *Pseudomonas* sp. S62 길항균의 발병 억제효과는 상당히 우수하였다. 병원균액에 침지시킨 배추잎은 병원균의 침투와 증식이 빠르게 진행되어 세포 조직의 연화 및 흑갈색으로 변색되어 조직 파괴가 확연하게 나타났으나 분리한 길항균을 혼합한 혼합액에서는 조직 파괴가 거의 일어나지 않았고, 특히 S43 균주는 거의 발병 흔적을 확인할 수 없었다. S62 균주의 경우 일부 발병 흔적은 확인할 수 있었으나 병원균액에 침지한 배추잎에 비해서는 상당한 억제 효과를 보였다. 분리한 두가지 길항균 모두 연부와 부패에 관여하는 *Erwinia rhapontici*의 식물체내 발병 억제에 뚜렷한 효과가 있었다.

길항균의 생육조건에 따른 길항력 변화

배양시간

배양시간에 따른 길항력 변화는 523 증식용 배지를

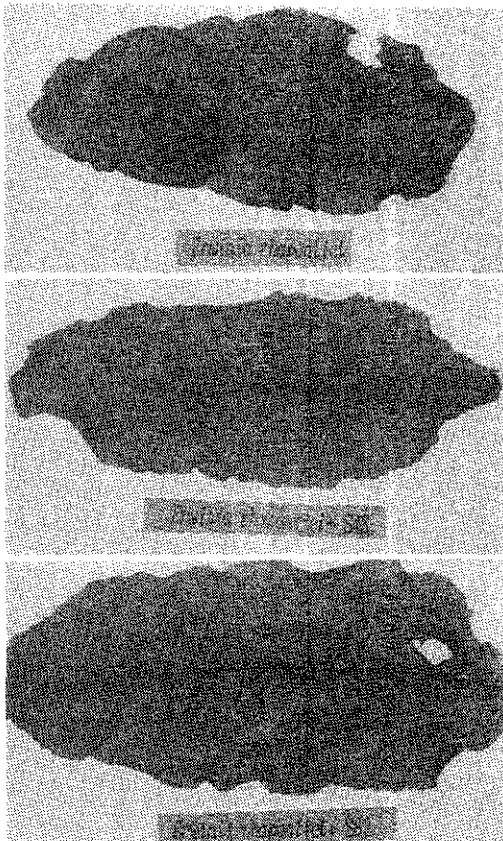


Fig. 3. Biological control effects of *Pseudomonas* sp. S43 and S62 isolates against plant pathogenic *Erwinia rhapontici*.

이용하여 30°C에서 배양하면서 1~5일동안 24시간마다 변화를 확인해 본 결과 Fig. 4와 같이 S43과 S62 두 균주 모두 배양시작 3일째 억제력이 가장 높았다. 이때 두 균주의 건조 균체량을 비교해 본 결과 배양액 100ml당 S43균주는 2.58mg이었고 S62균주는 2.23mg이었다. 이러한 결과로 볼때 S43균주는 균체 증식속도가 S62균주에 비하여 빠르고 따라서 억제물질의 생성량도 많은 것으로 추정된다.

초기배양 pH

분리 길항균은 배양초기 pH가 생육에 미치는 영향을 확인하기 위하여 523증식용 액체배지에 미리 pH를 조정하고 배양한 다음 건조 균체량을 측정된 결과 Table 2와 같이 S43과 S62균주 모두 pH 7.0일때 최대 건조 균체량인 2.66mg과 2.12mg으로 나타났다. 이때 두 균주의 병원균에 대한 억제력은 Fig. 5와 같이 모두 pH 7.0일때 최대값을 보였다. 이상의 배양조건을 검토해 볼때 S43균주는 S62균주에 비하여 증식속도가 빠르며 관련 억제물질의 생성량도 높았고, 두 균주 모두 pH 9.0 이상에서는 급격히 생육속도가 떨어져 최대 증

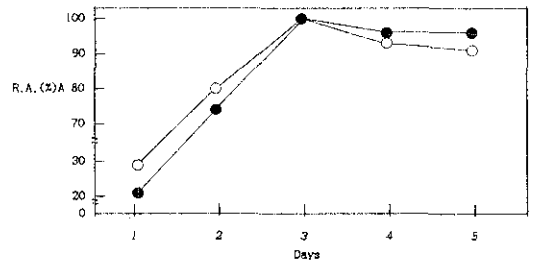


Fig. 4. Effect of culture days on the antagonistic activity of isolated *Pseudomonas* sp.

R. A. (%A) ; relative activity, R. A. of culture synthetic broth (523media) for 3 days was 100%, ○ ; *Pseudomonas* sp. S43, ● ; *Pseudomonas* sp. S62

Table 2. Dry weight of antagonistic *Pseudomonas* sp. S43 and S62 on the initial culture pH at 523media<sup>a</sup>

| Initial culture pH | Dry weight of the cell (mg/100ml) |      |
|--------------------|-----------------------------------|------|
|                    | S43                               | S62  |
| 5.0                | 1.82                              | 1.69 |
| 6.0                | 1.97                              | 1.76 |
| 7.0                | 2.66                              | 2.12 |
| 8.0                | 2.04                              | 2.10 |
| 9.0                | 1.72                              | 1.66 |
| 10.0               | 1.03                              | 0.46 |

523media<sup>a</sup> ; 8g casein hydrolysate, 10g sucrose, 4g yeast extract, 2g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.3g MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 15g agar per distilled water 1 liter, pH 7.0

식량을 나타내는 pH 7.0에 비하여 20% 이하로 감소되었다. 이때 억제력의 감소 또한 급격하여 30% 이하의 억제력 감소를 나타내었다. 이같은 결과는 배양액중의 억제물질이 알칼리성 조건하에서 안정성에 영향을 미칠 수도 있으므로 배양액을 pH 8.0~10으로 조정하고 30°C에서 3일 동안 처리하여 pH 안정성을 조사한 결과 pH 8.0에서는 pH 7.0에 비하여 1~2%의 감소를 보였으나 pH 9.0에서는 7~8%였고 pH 10에서는 약 25%의 억제력 감소를 나타내었다. 따라서 배양초기 pH 9.0 이상에서는 생성되는 억제물질의 일부는 알칼리성 조건하에서 억제력을 상실한다고 볼 수 있다.

이상의 결과로 볼때 본 실험균주의 pH 8.0이상에서는 증식과 억제물질의 효용성에서 불리한 조건임을 알 수 있다. 또한 본 실험 균주의 토양 정착화는 토양의 pH와 밀접한 관계가 있으며 중성 또는 pH 8.0이하의 약 알칼리성 토양에서 효과적일 것으로 생각된다. 우리나라 경작지 토양의 대부분은 pH 5.1~6.0으로 산성화되어 있으나 최근 유기농법 등의 화학비료 사용을 기피하는 농사법이 확대되고 있어 토양의 pH가 개선된다면 실험 균주의 토양정착 및 효과가 기대된다. 많

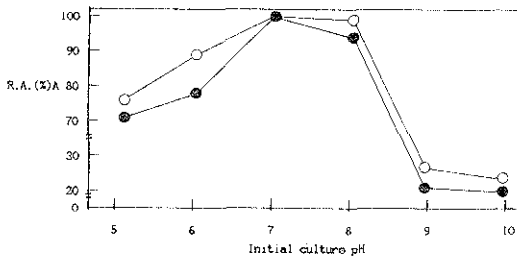


Fig. 5. Effect of initial culture pH on the antagonistic activity of isolated *Pseudomonas* sp. R. A. (%A) ; relative activity, R. A. of culture synthetic broth (523media) in pH 7.0 was 100%, ○ ; *Pseudomonas* sp. S43, ● ; *Pseudomonas* sp. S62.

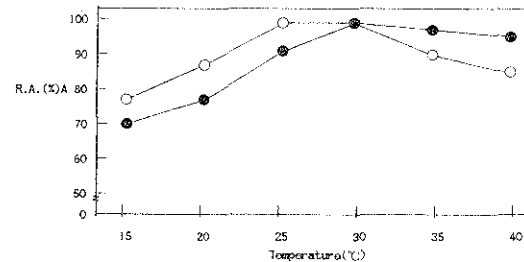


Fig. 6. Effect of temperature on the antagonistic activity of isolated *Pseudomonas* sp. R. A. (%A) ; relative activity, R. A. of culture synthetic broth (523media) at 30°C was 100%, ○ ; *Pseudomonas* sp. S43, ● ; *Pseudomonas* sp. S62.

은 식물병원균은 오히려 산성토양에서 잘자란다는 보고<sup>2)</sup> 내용으로 볼때 토양의 중성화는 길항균의 식물병원균에 대한 억제력을 최대화하면서 식물병원균의 생육은 억제하여 발병억제를 효과적으로 조정할 수 있는 하나의 유용한 조건이 된다. 최근 유기질비료 사용이 확산되는 소위 유기농법이 보다 더 확대된다면 본 실험균주의 토양내 정착이 쉽게 이루어질수도 있을 것으로 생각된다.

배양온도

배양온도에 따른 식물병원균의 생육 억제력 변화를 조사하기 위하여 523 증식용 배지의 pH를 7.0으로 조절하고 5°C에서 40°C까지 5°C의 간격으로 3일간 배양하고 *Erwinia rhapontici* 병원균에 대한 생육 억제력을 조사하였다. Fig. 6와 같이 배양온도에 따른 억제력은 일반 토양세균의 최적 활성 온도범위인 25~30°C에서 높은 생육 억제력을 보이지만, S62균주는 30°C에서, S43균주는 25~30°C에서 가장 높은 생육 억제력을 보였다. 따라서 본 균주의 경작지 토양에서의 활성은 토양온도가 비교적 높은 춘하절기에 높은 억제력을 나타낼 것으로 생각되며 시설 작물 지역의 토양은 연중 보온시설을 이용하는 경작으로 인하여 지속적인 효과를 기대할 수 있을 것이다. 조<sup>2)</sup>와 이 등<sup>2)</sup>에 의하면 시설원에 경작지는 급속히 증가하고 있으나 불충분한 관리로 인하여 많은 전염병이 발생하고 있다고 하였고, 고온다습한 토양과 병원균의 계절적 증식 조절환의 파괴로 발병이 증가하고, 약제 살포로 길항균의 인위적 감소가 가속화되고 있다고 하였다. 이러한 문제점의 해결을 위하여 본 균주를 시설원예지 토양에 적용한다면 상당한 효과가 있을 것으로 기대한다.

길항균의 시비토양중 활성

분리한 길항균이 토양에 살포하였을때 화학비료 등에 의한 영향을 관찰하기 위하여 살균된 토양에 황산암모늄 1.0%, 중과인산석회 0.4%, 염화加里 0.4%씩 첨가한 후 분리 길항균을 접종하여 15일간 30°C에서

Table 3. Culture of antagonistic bacteria in fertilizer additive soil

| Strains | Inhibition zone (mm)     |                               |
|---------|--------------------------|-------------------------------|
|         | Fertilizer additive soil | None fertilizer additive soil |
| S43     | 13.9                     | 9.4                           |
| S62     | 12.4                     | 8.7                           |

Fertilizer additive soil ; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.4%, CaCl<sub>2</sub> 0.4% in 40g soil

배양한 후 살균증류수로 추출한 추출액으로 병원균에 대한 억제력을 비교해 본 결과 Table 3과 같이 두 균주 모두 비료를 첨가하지 않은 무처리구에 비하여 억제력이 약 40~50% 증가한 결과를 얻었다. 이는 균 증식량의 증가의 증가에 의한 억제물질 생성량의 증가로 생각된다. 이러한 결과는 일반적으로 사용되는 질소, 인산, 칼리성분을 함유한 비료는 본 실험균주의 생육 및 억제물질생성에 도움을 주었다. Barkker<sup>14)</sup>는 토심이 깊어짐에 따라 정착능력이 감소한다고 하였고, James 등<sup>16)</sup>은 토층간의 전하의 성질에 좌우된다고 하였다. 따라서 본 길항균의 토양 정착조건을 파악하기 위해서는 보다 다양한 토양조건에 대하여 검토할 필요가 있다.

요 약

과채류 등의 부패균인 *Erwinia rhapontici*의 생육을 억제하는 길항균을 경작지 표토층으로부터 우수한 억제력을 갖는 S43과 S62 균주를 최종 선발하고 API 20NE kit를 이용하여 *Pseudomonas* 근연종으로 동정하였다. 523종식용 배지상에서 배양조건에 따른 억제력 변화를 조사한 결과 배양초기 pH를 7.0으로 조정하고 25~30°C에서 3일간 배양했을때 가장 높은 억제력을 나타내었다. 분리한 길항균은 토양에 질소, 인산, 칼리성분 비료를 첨가함으로써 병원균에 대한 생육 억제력을 비료를 첨가하지 않은 토양에 비하여 약 40~50% 증가시킬 수 있었다.

문 헌

1. 조중택 : 우리나라 시설원예의 병해현황과 그 방제 대책 및 문제점. 한국식물보호학회지, 15, 213 (1976)
2. 이은호, 노영팔, 정연태 : 고추연작지대 연작피해 경감에 관한 연구. 영시시험연보, p.510 (1985)
3. Zink, R. T., Kemble, R. J. and Chatterjee, A. K. : Transposon Tn5 mutagenesis in *Erwinia* subsp. *carotovora* and *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *J. Bacteriol.*, 157, 809 (1984)

4. 김교창, 육창수, 도대홍 : Bacteriocin 생산유전자의 cloning 및 식물병원균에 대한 생물학적 억제. 산업미생물학회지, 18, 98 (1990)
5. Bernard, K., Schrempf, H. and Goebel, W. : Bacteriocin and antibiotic resistance plasmid in *Bac. cereus* and *Bac. subtilis*. *J. Bacteriol.*, 133, 897 (1978)
6. Bredly, D. E. : Ultrastructure of bacteriophage and bacteriocins. *Bacteriol. Rev.*, 31, 230 (1967)
7. Gantotti, B. V., Kindle, K. L. and Beer, S. V. : Transfer of the drug-resistance transposon Tn5 to *Erwinia herbicola* and the induction of insertion mutations. *Curr. Microbiol.*, 6, 377 (1981)
8. Peet, R. C., Lindgren, P. B., Willis, D. K. and Panopoulos, N. J. : Identification and cloning of genes involved in phaseolotoxin production by *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola*. *Phytopathol.*, 75, 104 (1985)
9. Peilin, X., Saffly, L. and Luis, S. : Molecular cloning of genes that specify virulence in *Pseudomonas solanaccarum*. *J. Bacteriol.*, 170, 617 (1988)
10. Anderson, D. M. and Mills, D. : The use of transposon mutagenesis in isolation of nutritional and virulence mutants in two pathovars of *Pseudomonas syringae*. *Phytopathol.*, 75, 104 (1985)
11. Tamaki, S. J., Gold, S., Robeson, M., Manulis, S. and Keen, N. T. : Structure and organization of the pel genes from *Erwinia chrysanthemi* EC16. *J. Bacteriol.*, 170, 3468 (1988)
12. Kado, C. I. and Heskett, M. G. : Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathol.*, 60, 969 (1970)
13. Kavanagh, F. : Antibiotic assays. In "Methods in enzymology" Academic Press, New York, Vol.43, p.53 (1975)
14. Gratia, A. : Techniques selectives pour la recherche systematique des germes antibiotiques. *C. R. Sciences Soc. Biol. Paris*, 140, 1053 (1946)
15. Barkker, K. F. : Evolving concepts of biological control of the plant pathogen. *Ann. Res. Phytopathol.*, 25, 67 (1987)
16. James, D. W., Suslow, D. and Steinbeck, K. E. : Relationship between rapid, "form adhesion" and long term colonization of roots by bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 50, 392 (1985)

(1993년 9월 14일 접수)